



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado



**POTENCIAL TERAPÊUTICO DA POMADA DE *Passiflora*
edulis EM MODELO MURINO DE LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR**

LUIS DOUGLAS MIRANDA SILVA

SÃO LUÍS - MA

2023

LUIS DOUGLAS MIRANDA SILVA

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DA POMADA DE *Passiflora*
edulis EM MODELO MURINO NA LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR**

Tese apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde
(PPGCS) da Universidade
Federal do Maranhão
(UFMA), como requisito
para obtenção do título de
Doutor em Ciências da
Saúde

Orientadora: Prof^a Dr^a
Lucilene Amorim Silva

SÃO LUIS - MA

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Miranda Silva, Luis Douglas.

POTENCIAL TERAPÊUTICO DA POMADA DE *Passiflora edulis* EM
MODELO MURINO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR / Luis Douglas
Miranda Silva. - 2023.

125 p.

Orientador(a): Lucilene Amorim Silva.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
UFMA, 2023.

1. *Leishmania amazonensis*. 2. Maracujá. 3. Pomada.
I. Amorim Silva, Lucilene. II. Título.

LUIS DOUGLAS MIRANDA SILVA

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DA POMADA DE *Passiflora*
edulis EM MODELO MURINO NA LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade
Federal do Maranhão (UFMA), como requisito para
obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Joicy Cortez de Sá
UFMA

Profa. Dra. Giselle Cutrim de Oliveira Santos
UEMA

Profa. Dra. Renata Mondêgo de Oliveira
UEMA

Profa. Dra. Rachel Melo Ribeiro
UFMA

Dedico este trabalho à minha família e a todos que me ajudaram no seu desenvolvimento, seja diretamente ou indiretamente.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer à Deus por pelo dom da vida, por todas as bênçãos obtidas e àquelas que ainda serão alcançadas.

Aos meus pais, por todo amor, carinho e investimento na minha educação ao longo de todos os anos da minha formação. Em especial à minha mãe que é meu modelo de caráter, honestidade, força e perseverança. Te amo, mãe. Você é a melhor mãe do mundo.

À minha professora ou mãe científica, Lucilene Amorim Silva, que ao longo desses 12 anos que estamos juntos foi orientadora, amiga, conselheira, parceira e “mãezona”. Obrigado pela confiança e paciência por tanto tempo, tenho gratidão eterna por toda formação no mundo da ciência. Nosso ciclo de relação aluno-professora está finalizando, mas pode continuar contando comigo para contribuições futuras.

A todos os professores do LIF/LPI/LIAC, que são profissionais e pesquisadores de excelência em suas áreas de atuação, além de grande inspiração para nós alunos. Em especial à professora Flávia Nascimento (vó científica), obrigado por todo carinho, ensinamentos, abraços calorosos, mimos e apoio quando precisei. À professora Ana Paula (tia científica), obrigado pela empatia, bolos deliciosos, conhecimentos e sorrisos. À professora Rosane Guerra (bisavó científica), obrigado por toda sabedoria, alegria e ser prestativa. Aos demais professores, Paulo Vitor, Thiare, Mayara, Márcia e Wanderson, obrigado pela amizade, carinho e aprendizado por todos esses anos.

À Diego Lindoso, meu namorado, amigo, companheiro, noivo, que ao longo dos nossos 12 de relacionamento, esteve presente em todas as situações mais importantes da minha vida. E não vai ser diferente pelos próximos anos, pois foi a pessoa que escolhi para compartilhar os melhores momentos de toda a minha vida.

Às amigas que fiz no LIF/LPI/LIAC durante estes 12 anos, Sônia, Carol, Louriane, Lillian, Liana, Jefferson, Patrícia, Aluísio, André, Johnny, Luana, Andressa, Carlene, Éder, Dona Joana, Arthur, Aline, Marina, Sthephany, Sabrina, Maria, Dayanne, Igor, Elza, Aramys, Diego, Regis, Irla, Gleycka, Ana Luiza, Bianca, Sulayne, Mirtis, Gleycka, Irla, Gabriela, Ranielly e a todos os outros que fizeram parte da minha trajetória científica.

À banca de defesa, pela disponibilidade e contribuição para aprimoramento deste trabalho.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pela infra-estrutura disponibilizada para o desenvolvimento e concretização deste trabalho. E à FAPEMA pelas bolsas concedidas e à CAPES pelo fomento e incentivo na pesquisa.

Por fim, a todos os professores do curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, por todo ensino e conhecimentos ao longo desses quatro anos que foram fundamentais na minha formação acadêmica e no profissional que me tornei.

“O seu valor é determinado por você. Não dependa de ninguém dizendo quem você é.”

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espécie vegetal <i>Passiflora edulis</i>	21
Figura 2. Distribuição da produção de maracujá nas regiões do Brasil.	22
Figura 3. Condições de cultivo do maracujazeiro.	23
Figura 4. Formas promastigota e amastigota de <i>Leishmania</i> sp.....	30
Figura 5. Ciclo de Vida de <i>Leishmania</i> sp.	32
Figura 6. Casos de Leishmaniose Tegumentar no Brasil, 2021.	34
Figura 7. Impacto da infecção por <i>Leishmania</i> nas células imunes.....	35

CAPÍTULO 1

Figura 1. Determinação do pH de pomada <i>P. edulis</i> a 25% durante 90 dias.....	57
Figura 2. Avaliação do crescimento de unidades formadoras de colônias à 32,5 °C por 72 horas.....	58
Figura 3. Avaliação do crescimento de unidades formadoras de colônias à 22,5 °C por 120 horas.....	59

CAPÍTULO 2

Figura 1. Delineamento experimental do tratamento de camundongos Balb/c infectados com <i>Leishmania amazonensis</i>	75
Figura 2. Cromatograma de HPLC do extrato bruto de <i>Passiflora edulis</i> (PE) (λ :254 nm)....	83
Figura 3. Estrutura dos compostos identificados por LC-MS no extrato bruto de <i>Passiflora edulis</i> (PE).....	83
Figura 4. Efeito do extrato bruto de <i>Passiflora edulis</i> em promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>	85
Figura 5. Efeito do extrato bruto de <i>Passiflora edulis</i> em macrófagos e eritrócitos.....	87
Figura 6. Avaliação do perfil de morte celular de promastigotas tratadas com <i>P. edulis</i>	89
Figura 7. Efeito do extrato bruto de <i>Passiflora edulis</i> em amastigotas.....	91
Figura 8. Taxa de infecção.....	92
Figura 9. Efeito do tratamento com pomada de <i>P. edulis</i> em lesões leishmanióticas.....	93
Figura 10. Peso do baço, linfonodo e lesão de camundongos infectados por <i>L. amazonensis</i> e tratados.....	94
Figura 11. Celularidade de camundongos infectados por <i>L. amazonensis</i> e tratados.....	95
Figura 12. Celularidade da lesão dos camundongos infectados por <i>L. amazonensis</i> e tratados.....	96
Figura 13. Dosagem de óxido nítrico de células peritoneais e do linfonodo.....	97

Figura 14. Avaliação da carga parasitária da lesão e linfonodo de camundongos infectados por <i>L. amazonensis</i> e tratados.....	98
Figura 15. Caracterização fenotípica das populações de linfócitos T do linfonodo.....	99
Figura 16. Caracterização fenotípica das populações de linfócitos B e células apresentadoras de antígeno do linfonodo.....	100
Figura 17. Caracterização fenotípica das populações de linfócitos T da lesão.....	101
Figura 18. Caracterização fenotípica das populações de linfócitos B e células apresentadoras de antígeno da lesão.....	102
Figura 19. Caracterização fenotípica das populações de macrófagos da lesão.....	103
Figura 20. Produção de citocinas IL-6, IFN- γ e IL-10.....	104
Figura 21. Análise dos achados histopatológicos de lesões leishmanióticas de camundongos tratados ou não por <i>P. edulis</i>	106

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

Tabela 1. Avaliação da cor, aspecto e odor da pomada de <i>Passiflora edulis</i> em diferentes condições de armazenamento e tempo.....	54
Tabela 2. Contagem de unidades formadoras de colônias em meio Ágar Mueller Hinton incubadas à 32,5 °C por 72 horas.....	58
Tabela 3. Contagem de unidades formadoras de colônias em meio Ágar Sabouraud incubadas à 22,5 °C por 120 horas.....	58

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Identificação de picos cromatográficos de HPLC de <i>Passiflora edulis</i> e dados obtidos de análises de HPLC-ESI-ITMS/MS.....	82
Tabela 2. Avaliação da concentração inibitória para <i>L. amazonensis</i> (IC ₅₀), concentração tóxica para macrófagos (CC ₅₀) e do índice de seletividade (IS).....	88
Tabela 3. Contagem diferencial de células do sangue.....	97
Tabela 4. Análise histopatológica da lesão de orelha de camundongos infectados por <i>L. amazonensis</i> e tratados ou não com pomada de <i>P. edulis</i> , seja isolada ou associada ao antimônio pentavalente.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCs – Células apresentadoras de antígenos (*Antigen-presenting cell*)

ATP - Adenosina trifosfato

ASSOCIADO – Camundongos tratados com 0,1 mL pomada de *P. edulis* e 28 mg/kg/dia de antimonial pentavalente

BAG – Banco ativo de germoplasma

BASE – Camundongos tratados com 0,1 mL de pomada base

BOD - Câmara de demanda bioquímica de oxigênio

BRS- BRASIL SEMENTE

CC50 - Concentração que apresenta igual e/ou maior que 50% da viabilidade celular

DCs – *Dendritic cells*

DMSO – Dimetilsulfóxido

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EROs – Espécies reativas de oxigênio

IC50 – Concentração inibitória em 50% da quantidade inicial

IFN- γ – Interferon gama

IL - Interleucina

IS – Índice de Seletividade

LC – Leishmaniose Cutânea

LCL – Leishmaniose Cutânea localizada

LD – Leishmaniose disseminada

LM – Leishmaniose mucocutânea

LPI - Laboratório de Patologia e Imunoparasitologia

LT – Leishmaniose Tegumentar

LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana

LV – Leishmaniose Visceral

MIP1 β - *Macrophage Inflammatory Protein 1 β*

MTT - (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio

NETs – Armadilhas extracelulares de neutrófilos (*Neutrophil extracellular traps*)

NK – *Natural killer*

NO – *Nitric oxide*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAMPs - Padrões moleculares associados a patógenos (*Pathogen-associated molecular pattern*)

PBS - *Phosphate-buffered saline*

PE – extrato bruto de *Passiflora edulis*

***P. edulis* (grupo experimental)**- Camundongos tratados com 0,1 mL pomada de *P. edulis*

PRRs- Receptor de reconhecimento de padrões (*Pattern recognition receptor*)

RENISUS - Relação de plantas de interesse do sistema único de saúde

ROS – *Reactive oxygen species*

Sb⁺⁵ – Camundongos tratados com 28 mg/kg/dia de antimônio pentavalente

SFB – Soro Fetal Bovino

SINAN - Sistema de Informações e Agravos de Notificação

ST – Sem tratamento

SUS – Sistema Único de Saúde

TGF-β – Fator de crescimento transformador beta

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa

TLR - Toll-like receptors

Th1 – Linfócitos T *helper* 1

Th2 – Linfócitos T *helper* 2

TPA - Éster de forbol 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato

UFC- Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Gênero <i>Passiflora</i>	20
2.2 Importância econômica de <i>Passiflora</i>	22
2.3 Contexto etnobotânico e etnofarmacológico de <i>Passiflora</i>	24
2.4 Gênero <i>Leishmania</i>	29
2.5 Ciclo de transmissão	31
2.6 Leishmaniose Tegumentar Americana	32
2.7 Imunofisiopatologia da Leishmaniose Tegumentar.....	34
2.8 Tratamento	39
2.9 Produtos naturais no tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana.....	42
3 OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo Geral	47
3.2 Objetivos Específicos	47
4 CAPÍTULO 1	48
5 CAPÍTULO 2	65
6 REFERÊNCIAS	115
ANEXO	130